

Effekter av olika ljuskvalitet på antocyaninkoncentration hos *Vaccinium corymbosum*

Effects of different light quality on anthocyanin concentration of
Vaccinium corymbosum

LTJ-Fakulteten

2013

Carina Öberg



Fakulteten för landskapsplanering, trädgårds - och jordbruksvetenskap
Självständigt arbete • 15 hp • Grundnivå, G2E
Trädgårdsingenjörsprogrammet odling • Självständigt arbete vid LTJ-fakulteten, SLU
Alnarp 2013

Titel: Effekter av olika ljuskvalitet på antocyaninkoncentration hos *Vaccinium corymbosum*.

Författare: Carina Öberg

Självständigt arbete vid LTJ-fakulteten, SLU

Fakultet för landskapsplanering, trädgårds- och jordbruksvetenskap, SLU, Alnarp
Institutionen för biosystem och teknologi

Handledare: Marie Olsson, SLU,
LTJ-fakulteten, Institutionen för växtförädling

Biträdande handledare: Karl-Johan Bergstrand, LTJ-fakulteten, Institutionen för biosystem och teknologi

Examinator: Helena Karlén, SLU,
LTJ-fakulteten, Institutionen för biosystem och teknologi

Omfattning: 15hp

Nivå och fördjupning: Grundnivå, G2E

Kurstitel: Kandidatarbete i biologi

Kurskod: EX0493

Program: Trädgårdsingenjörsprogrammet odling

Utgivningsort: Alnarp

Utgivningsår: 2013

Omslagsbild: Carina Öberg, LED-belysta blåbär, SLU, Alnarp

Serietitel:nr: Självständigt arbete vid LTJ-fakulteten, SLU

Elektronisk publicering: <http://stud.epsilon.slu.se>

Nyckelord: Antocyanin, LED-belysning, ljus kvalitet, blåbär, lagring, *Vaccinium corymbosum*, spektrofotometer

Engelsk titel: Effects of different light quality on anthocyanin concentration of *Vaccinium corymbosum*

Keywords: Anthocyanin, LED lightning, light quality, blueberries, storage, *Vaccinium corymbosum*, spectrophotometer

Förord

Intresset för biokemi och bioteknologi har vuxit under de tre år som utbildningen till trädgårdsingenjör pågått vid SLU, Alnarp. Att få vara med och påverka en produkt som kan ge människor bättre hälsa, bidrar till min entusiasm och nyfikenhet. Det har varit mycket utmanande att göra ett försök med färska bär under vinterhalvåret och under så kort tid som 15 högskolepoäng. Målgruppen för arbetet är vidare forskning samt företag som jobbar med export av blåbär. Kanske finns det något i detta arbete att tänka över som entreprenör? Eller finns det något att arbeta vidare på? Ett stort tack till alla som stöttat mig under examensarbetes gång. Tack till Marie Olsson för ett tydligt och handfast handledarskap samt för anordning av kontorsplats, vilket underlättade mycket. Tack till Karl-Erik Gustavsson för all hjälp och tålamod i laboratoriet. Tack till Sofia Roos som under sin praktikperiod assisterat mig under en större del av det praktiska försöket. Tack till Fredrik Reslow som stöttat mig under skrivarpauserna med fika och té och tack till min mor Marian Saers, som tar flyget till Malmö från Stockholm för att bjuda på blåbärspaj vid redovisningen. Jag vill även tacka sponsor Alexandre Neves, Everfresh, för alla lådor med blåbär som gick åt under försöket.

Carina Öberg

Alnarp, 2013-03-12

SAMMANFATTNING

Blåbär är en naturlig källa till antioxidanter, bland annat antocyanin. Antocyanin är ett pigment som bidrar till biomedicinska funktioner som förbättrad syn, förbättrat minne, skydd mot hjärt- och kärlsjukdomar samt andra hälsoeffekter. Idag finns en stor marknad för blåbärsextrakt, där bland annat antocyanin på piller säljs som hälsokostmedel. Försöket syftar till att undersöka om olika våglängdsområden kan öka ackumuleringen av antocyanin hos *V. corymbosum* av sorterna 'Duke' och 'Legacy'. Blåbär har LED-belysts med blått-, rött- samt UV-ljus under olika exponeringstider och med olika ljusintensitet. Hälften av blåbären som ingick i försöket lagrades efter ljusexponeringen. Blåbären frystes och antocyanin extraherades med surgjord metanol. Koncentrationen av antocyanin bestämdes med spektrofotometer. Resultatet visar att rött/blå-ljusbehandling under 48 timmar utan lagring, gav en ökning av antocyanin med 21,8 procent hos blåbärsorten 'Legacy'. Även 'Duke' gav en ökning av antocyanin med 15,1 procent.

ABSTRACT

Blueberries are a natural source of antioxidants, including anthocyanin. Anthocyanin is a pigment that contributes to biomedical features like improved vision, improved memory, protect against heart disease and other health aspects. Today there is a large market for bilberry extract, which includes anthocyanin in pills sold as health food supplements (health food resources). The experiment aims to investigate whether different wavelength regions can increase the accumulation of anthocyanin in *V. corymbosum* varieties 'Duke' and 'Legacy'. Blueberries were treated with LED-light to different exposure times and with different light quality namely blue-, red- and UV-light as well. Half of the tested blueberries were stored after treatment. The anthocyanin was extracted with acidified methanol while the blueberries were frozen. The concentration of anthocyanin was determined with a spectrophotometer. The result shows that the 48 h red/blue-light without storage treatment on 'Legacy', increased the anthocyanin with 21, 8 percent. For the variety 'Duke' the increased level of anthocyanin was 15, 1 percent.

INNEHÅLLSFÖRTECKNING

1. Introduktion	1
1.1 Bakgrund	1
1.1.1 Antocyanin – en pigmenterad flavonoid	2
1.1.2 Ljusexponering och lagring	3
1.2 Syfte och hypotes	4
2. Material och metod	5
2.1 Försöksupplägg	5
2.2 Tillvägagångssätt	5
3. Resultat	9
3.1 UV-ljusbehandlingar	12
3.2 Blå-ljusbehandlingar	13
3.3 Röd/blå-ljusbehandlingar	14
3.4 Viktförluster	15
4. Slutsats och diskussion	16
Referenser	18

1. Introduktion

1.1 Bakgrund

Blåbärssläktet (*Vaccinium*) ingår i familjen *Ericaceae* och har omkring 450 olika arter (Naturhistoriska riksmuseet 2004). I Sverige finns få arter och de vanligaste är blåbär (*V. myrtillus*), lingon (*V. vitis-idaea*) och tranbär (*V. oxycoccos*). Det europeiska blåbäret (*V. myrtillus*) växer vilt och amerikanska sorter som highbush (*V. corymbosum*) har selekterats fram (Kalt et al. 1999). Lowbush (*V. angustifolium*) är liksom det europeiska blåbäret en vild art.

Intresset för det vildväxande europeiska blåbäret, *V. myrtillus*, startade redan på 60-talet med det italienska företaget Idena och deras forskning kring antocyanin. Det var här som en marknad kring blåbärsextrakt startade och med tiden medförde konkurrens från både USA och Japan (Uddstål 2013). Idag sker den största produktionen av blåbärsextrakt i Kina. I Japan sker viss produktion av blåbärsextrakt och en intensiv marknadsföring har skett eftersom blåbär anses medföra positiva hälsoegenskaper som bland annat förbättrad syn. I Sverige transporteras 80 % (Uddstål 2013) av de vilda bär som plockas kommersiellt, till bland annat Japan för extraktion och utvinning av antocyanin som stoppas i piller och säljs på burk. Sammanlagt produceras 150-200 ton pulver varje år men ingen produktion sker i Sverige. Dock finns viss produktion i Finland, Danmark och Tyskland. Det är antalet olika antocyaniner hos blåbär som betalar sig på markanden. Till skillnad från de amerikanska sorterna, *V. angustifolium* och *V. corymbosum* (13 stycken), har *V. myrtillus* ett större antal olika antocyaniner (15 stycken) och är därmed mer eftertraktad. Tidigare har blåbärprodukter sålts baserad på tro om hälsoegenskaper. Idag finns studier som påvisar medicinala effekter.

Antocyanin har en antioxidativ status och kan ge förbättrad syn, bättre hälsa i urinvägar och förbättrad hälsa i huden (Zafra-Stone 2007). Bevis finns för att antocyanin har hälsoegenskaper som skyddar mot hjärt – och kärlsjukdomar, cancer, neurodegenerativa sjukdomar som demens och Parkinson och mot diabetes typ II. Andra biomedicinska funktioner som antocyanin från bär har visat indikation på positiva hälsoeffekter som inflammatoriska responser, åldersinducerad oxidativ stress som kan ge störning i hjärnfunktioner som kordination, balans eller korttidsminne (kognitiva och neurologiska hjärnfunktioner) och ögonens hälsotillstånd som bland annat mörkerseende etc. Vid en finsk humanstudie visades signifikanta hälsoeffekter vid dagligt intag av antocyaninrika bär som blåbär, lingon, svart vinbär, jordgubbar, hallon och aronia. Fördelaktiga förändringar hos funktionen av trombocyter (blodplättar), HDL kolesterol och blodtryck påvisades när 72 män och kvinnor regelbundet intog två portioner bär, däribland en stor mängd blåbär, dagligen under 8 veckor. I övrigt har flest studier gjorts via djurförsök för att se eventuella hälsoeffekter som antocyanin i blåbär kan ge. I en studie reducerades blodsockernivån samt ökade insulinkänsligheten hos möss med diabetes typ II (Takikawa et al. 2010). Flavonidrik mat, däribland antocyanin, visar starka samband med förbättrat åldersrelaterat spatialt minne samt inlärning och kan involvera, till viss grad, morfologiska förändringar i nervceller (Rendeiro et al. 2012)

1.2 Antocyanin – en pigmenterad flavonoid

Antocyanin (grek. *A'nthos* = blomma, *Cy'anus* = blå) är en pigmenterad flavonoid som ger färgerna röd, lila, blå och rosa till växtvävnad (Iseborg 2009; Taiz et al. 2012). Flavonoider är en stor grupp fenoler med C6-C3-C6 struktur som bas vilket menas att tre kol binder samman två bensenringar (Raven et al. 1999). Flavoner och flavonoler är ofta färglösa ämnen tillhörande flavonoiderna som kan bilda komplex (eng. co-pigmentation) med antocyanin samt metalljoner och därmed ge uttryck för intensivt blå färg åt blommor och frukt. Fenoler är en stor grupp ämnen vilka har en hydroxylgrupp (-OH) bunden till en bensenrings kolatomer och gruppen representeras i alla typer av växtvävnader.

Antocyaniner är, förutom en pigmenterade flavonoider, även en glykosiderade *antocyanidiner* (Taiz 2012). Antocyanidiner är så kallade antocyanaglykoner, vilket innebär att antocyanidinmolekylen har tappat sin sockergrupp genom hydrolys. Antocyanin är ett instabilt pigment när det har isolerats, och det degraderas lätt (Castañeda-Ovando et al. 2009). Stabiliteten påverkas av metalljoner, andra flavonoider, enzymer och proteiner, syre, ljus, koncentrationen, den specifika kemiska strukturen, lagringstemperaturen och pH. Antocyanidin har uppmätts i koncentrationer från 0,01 % till 15 % av torrvikten hos olika växtmaterial (Goodwin & Mercer 1972). Antocyanin är den mest konjugerade formen av flavonoiderna och beroende på pH så kan ämnet existera i varierade strukturer (Dey & Harborne 1997). Vid pH 4-6 sker hydrolys (en bindning bryts i reaktion med vatten) av antocyanidin vilket bildar en färglös carbinol (även kallad metylalkohol eller metanol). Växters vakuoler har generellt pH 4-6 vilket är en miljö där antocyanidin är ostabil. För att skydda antocyanidin mot hydrolys sker co-pigmentering (en färglös substans som binder till antocyanidin och därmed påverkar pigmentet). Exempelvis bildas en *intermolekylär co-pigmentering* (kemisk bindning mellan molekyler) med en annan färglös substans som flavonol, eller flavonglykosid. Även *intramolekylär co-pigmentering* (kemisk bindning mellan atomerna inom samma molekyl) med aromatiska acylgrupper (kemisk funktionell grupp) kan ske.

Antocyanin är lokaliserad till vakuolen hos alla terrestra växter, samt i alla typer av vävnader som epidermis, olika typer av rötter, hypokotyl och coleoptil, stam, frukt, blommor, blad, grundvävnad, vaskulär vävnad etc. (Haite & Gould 2009). Färgämnet kan utvecklas varierande och ses enhetligt, som ränder eller som prickar. Den troliga funktionen är att antocyanin verkar som respons på abiotisk och biotisk stress som extrem temperatur, torka, ozon och patogenangrepp. Troligtvis skyddar antocyanin mot skadlig ljusstrålning (kortvågig ljusstrålning som UV-ljus) och därmed fotoinhibition vilket kan skada reaktionscentrat i fotosystem II, antennpigment och elektrontransportbärare, vilket i sin tur ger skada på tylakoidmembranen. Blad med antocyanin tar upp mindre ljus än de gröna respektive gula delarna av bladet vilket kan indikera på att ljusenergin inte vidarekopplas till kloroplasterna. Att frukter är färgade av antocyanin kan vara ett sätt att attrahera födosökande djur som bidrar till fröspridningen.

Blåbär i allmänhet har hög halt av antocyanin (Kalt et al. 1999). Det europeiska blåbäret (*V. myrtillus*) innehåller antocyanin i både skal och fruktkött, medan de amerikanska arterna generellt har antocyanin i skalet. När antocyaninhalten analyserades hos olika genotyper inom *V. myrtillus*, *V. corymbosum* respektive *V. angustifolium* visade europeiska blåbäret högst halt av antocyanin (Kalt et al. 1999). Dock varierade den totala halten inom arterna och genotyperna.

1.3 Ljusexponering och lagring

LED-ljus (light emitted diode) ger monokromatiskt ljus vilket innebär en specifik våglängd och färg, med undantag för vitt ljus som är en blandning av olika våglängder (Schüssler & Bergstrand 2009). Ljusspektrumet kan varieras genom att olika dioder med monokromatiskt ljus, sammansätts i en armatur. Lysdioder innehåller inte någon tungmetall vilket är positivt ur en miljöaspekt. Dioderna avger varken IR- eller UV-ljus utan verkar endast inom synligt ljusspektrum, samt avger ingen strålningsvärme under ljusbehandlingen vilket innebär ljuskällan kan placeras nära växter i begränsande utrymmen. Den värme som uppkommer leds ut på diodens baksida. LED-tekniken anses dessutom vara energisnål och effektiv gällande konverteringen från elektricitet till ljus.

Olika våglängder av synligt ljus kan användas för att eventuellt öka antocyaninhalten i skalet hos bär och andra vävnader av växtmaterial. Dock visar litteraturen varierande resultat, både med- och utan effekt. Litteratur angående LED-ljus och dess effekt på antocyanin hos blåbär är knapp. Dock finns information att tillgå kring UV-ljus, annan ljus teknik och andra växtmaterial som behandlats. Tidiga studier från 1985, med hjälp av bland annat xenon-lysrör, visade viss effekt på antocyaninackumulering i äppelskal efter UV-ljusbehandling tillsammans med vitt ljus (Arakawa et al 1985). Äppelskalet tvättades med 0,3 M sukros och placerades på filterpapper med destillerat vatten och täcktes sedan med PVC-plast. Skalen belystes med hjälp av fluorescerande ljus under 72 timmar: UV + vitt ljus, endast vitt ljus, UV + Rött ljus, UV + blått ljus, endast UV-ljus (absorbanstopp 312 nm), Rött + Blått ljus, endast rött (660 nm) samt endast blått ljus (460 nm). Studien visade att rött ljus tillsammans med UV-ljus gav en synergieffekt och en viss ökning av antocyanin. Kombinationen av blått och rött ljus var inte lika effektivt som interaktionen mellan rött- och UV ljus. Högst ackumulering gav UV- och vitt ljus.

Även rött och blått ljus kan ge effekt på antocyaninproduktionen hos bär. Amerikanska tranbärsplantor med bär på, belystes med bland annat rött ljus från 40 W lyströr, vilket ljuset filtrerades igenom en färgad plastskiva (Zhou et al. 2002). Även mörkrött (eng. far-red), vitt- och solljus testades för att se om bland annat en antocyaninackumulering skett. Nio olika sektioner av tranbärsbuskar med varierande mognad gavs olika behandlingar med solljus, vitt-, mörkrött, rött-, rött till mörkrött, grönt-, lång respektive kortvågigt UV-ljus (254 nm, 365 nm). Den sektion som gavs rött- och mörkrött ljus, belystes 30 min under olika dagar och hölls övrig tid i mörker. Bären plockades efter 8 dagars behandling och mixades i surgjord metanol, lagrades i kyl under en natt i 4 °C, för att sedan analyseras med HPLC. Bär som förvarats mörkt hade samma antocyaninhalt som de prov vilka inte hade ljusbehandlats. Halterna ökade i alla grupper av ljusbehandlingar. Resultatet från studien visade att rött ljus gav högst respons på antocyaninackumulering. Analys av olika delar av växtmaterialet visade att antocyanin ackumuleras i skalet hos bären.

LED-ljus användes före skörd i en studie med vindruvor där blått ljus (460nm) och rött ljus (640 nm) belyste rankorna i 15 timmar per dygn under fem dagar (Azuma et. al 2012). Resultatet visade att de belysta druvorna hade högre halt av antocyanin överlag, men att blått ljus gav högst ackumulering. LED-ljus användes även för att belysa vindruvor av sorten 'Gros Colman' efter skörd (Kataoka et al. 2004). Druvorna steriliserades och placerades i petriskålar med 0,4 M sukros och LED-ljusbehandlades med specifika våglängder av synligt ljus ($20 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ i en låda 20x20x20 cm), diffust solljus, vitt - och UV ljus från lyströr (352 nm) under 72 timmar. Antocyaninhalten ökade under alla typer av ljus, men studien visar att korta våglängder (blått ljus – UV ljus) gav störst effekt på den ökade

antocyaninhalten. Sammanfattningsvis visar tidigare studier att förhållandevis lägre ljusintensitet och längre exponeringstid ger effekt på antocyaninkoncentrationen.

Att lagra de ljusexponerade bären kan vara intressant då ett antagande är att biosyntes av antocyanin kan ha en viss laggtid mellan ljusstimuli och optimal ackumulering. Att dessutom lagra bären i en temperatur där bärens metabolism är lagom hög för att syntes av antocyanin ska vara optimal, är intressant att undersöka. I en studie angående UV-belysta bordsvindruvor sågs en viss ökning av antocyanin under lagring i 0 °C, men halterna sjönk därefter till de initiala nivåerna efter druvorna förflyttats till 15 °C i fem dagar (Cantos et al. 2000). Det hela resulterade i att UV-behandlade druvor inte visade någon effekt på anthocyanin halten då kontrollen likaså hade en ökning av antocyanin. Blåbär som lagrats och analyserats utan någon ljusbehandling har visats sig kunna ge en viss ökning av antocyanin. Highbush blåbär (*V. corymbosum*) och lowbush (*V. agustifolium*) lagrades i 0, 10, 20, och 30 °C i upp till 8 dagar för att sedan analysera bärens antioxidantkapacitet (Kalt et al 1999). Även andra bär har analyserats som jordgubbar (*Fragaria X ananassa*) och vinbär (*Rubus ideaus*). Jordgubbar och vinbär visade en ökning av antocyanin efter lagring, medan blåbär inte visade någon skillnad i ökning av antocyanin. Lowbush blåbär (*Vaccinium agustifolium*) av klonerna 'Blomidon', 'Fundy' och 'Cumberland' lagrades under två veckor i 1 °C och visade en ökning av antocyanin med 18 % (Kalt & McDonald 1996). Bären hade då delats in i tre grupper beroende på mognad baserat på storlek och färg. Hälften analyserades direkt efter skörd, medan resterande lagrades i kartonglåda med ventilerande plast över.

1.4 Syfte och hypotes

Försöket syftar till att undersöka om olika våglängdsområden kan öka ackumuleringen av antocyanin hos *V. corymbosum* efter skörd.

Hypotesen är att olika våglängder av ljus (ljuskvalitet) har olika inverkan på biosyntesen av antocyanin i växtvävnad och därmed på koncentrationen av antocyanin. Försöket besvarar frågeställningen om ljuskvalitet kan ge effekt på antocyaninkoncentrationen hos buskblåbär, om hög ljusintensitet under kort tid kan leda till en högre halt av antocyanin jämfört med kontrollprovet eller om en lägre ljusintensitet under längre tid är mer effektivt. Försöket besvarar även frågan om ackumuleringen av antocyanin fortsätter under lagringen.

2. Material och Metod

2.1 Försöksupplägg

Med tanke på tidigare studier som behandlat ljuskvalitets effekt på antocyaninkoncentration i olika växtmaterial, valdes röd-, blå- och UV-ljus som olika våglängder att testa.

Försöket utfördes med LED-lampor och UV-lampa i omslutande låda (Chromato-Vue, 220 Volts 50 CYC. Mod.no. C5 Amps. 2,0, UltraViolet prod., Inc. San Gabriel. Calif.) Blåbären belystes med olika ljusspektra: blåljus 456 nm, 160 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ och blåljus 456 nm, 400 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, rödljus 662 nm + blåljus 456 nm 160 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ och rödljus 662 nm + blåljus 456 400 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ samt UV-ljus: 280-315 nm. Ljusexponeringen skedde under olika tidsperioder (0,5 timmar till och med 72 timmar) och med olika ljusintensiteter (160 och 400 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Hälften av alla prover lagrades under fem dagar i kylskåp (+5°C) i transparanta platsburkar. Samtliga prover frystes för att extraheras och analyseras med spektrofotometer i omgångar (24 prov/analys). Försökets utfördes på två olika sorters blåbär, 'Duke' och 'Legacy'. Utförandet med respektive sort skedde med en veckas mellanrum.

Tiden för försöket var februari vilket medförde svårigheter att finna svenska, färska blåbär på marknaden. Vid telefonkontakt med bärgrossist (Neves A., Everfresh) kom det till kännedom att spanska- eller marockanska odlade buskblåbär fanns att tillgå på marknaden i liten mängd, vilket skulle vara det mest färska materialet att använda. Dock var det tidigt på säsongen och endast chilenska blåbär av highbush sorterna 'Duke' och 'Legacy' var möjliga för grossisten att köpa in vid de två tillfällena som försöket ägde rum. Dessa blåbär hade fraktats med fartyg till Holland och packats från bulk till små lådor, transporterats med lastbil till grossist i Helsingborg och till sist transporterats med bil i kylboxar till laboratoriet i Alnarp. Större delen av tiden hade bären förvarats i ULO-lager (Ultra Low Oxygen).

2.2 Tillvägagångssätt

Blåbär vägdes upp och storlekssorterades, 6 stycken bär med totalvikt 10 gram \pm 0,150 gram, för att få så enhetliga prover som möjligt. Eftersom antocyanin är beläget i skalet hos valda sorter bör både vikt och antal blåbär vara detsamma till varje prov. Tre paralleller per prov ljusbehandlades enligt *Tabell 1*. Försöket utfördes två gånger, en gång för 'Duke' och en gång för 'Legacy'. Blåbären placerades under två olika LED-kluster (totalt 90 lysdioder per kluster). Ett kluster som innehöll rödljus + blåljus (8:1) 456 nm, 160 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ och 456 nm 400 $\mu\text{mol m}^{-2}$ och ett kluster med endast blå-ljus 456 nm, 160 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ och 456 nm 400 $\mu\text{mol m}^{-2}$. Armaturen var upphängd i en bur med omslutande svart plast runt. Buren var placerad i ett konstantrum med 18°C. Bär placerades också under UV-lampa i omslutande låda (Chromato-Vue, 220 Volts 50 CYC. Mod.no. C5 Amps. 2,0, UltraViolet prod., Inc. San Gabriel. Calif.). Ljusintensiteten, mättes med ljusmätare (Delta OHM, Quantum sensor 400nm-700nm, LP 471) i de burar med upphängda LED-lampor. Dock saknades utrustning för att mäta exakt ljusintensitet i UV-ljus. Ljusbehandlingarna varierade i tid och ljusintensitet. Totalt var det åtta olika ljusbehandlingar som testades. Hälften av de ljusexponerade bären stoppades direkt i falkonrör (50 ml) och frystes ned till - 80°C. Resterande prover lagrades under fem dagar i kylskåp (+5 °C) innan nedfrysning. Totalt gav ett försök per blåbärssort, 48 prov (3*16) + kontroller.

Blåbärsorten 'Legacy' har två kontroller varav ingen av kontrollerna har utsatts för ljusexponering. 'Legacy's ena kontroll, (Kntr+Lag), placerades bredvid burarna, omsluten i svart ventilerande plast.

Kontrollprovet fick mörker behandling i 72 timmar samt lagring i fem dagar, med samma temperaturer som övriga behandlingar. Övriga kontrollprov frystes direkt vid ankomst till laboratoriet. Syftet med att ha två kontroller är att se om eventuell degradering- eller ackumulering av antocyanin sker, trots utebliven ljusexponering.

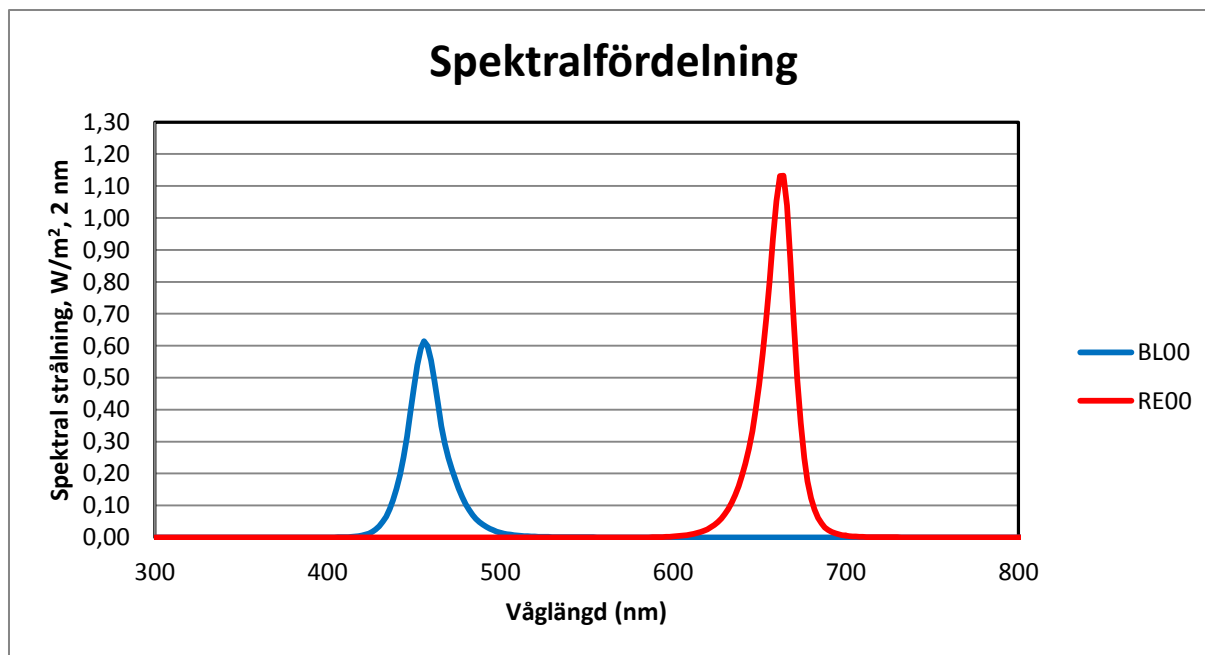
Ljuskvalitet (nm)	Exponeringstid (h)	Ljusintensitet ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)
UV (280-315)	0,5, lagring 0 dygn	-
UV (280-315)	1,5, lagring 0 dygn	-
Blå (456)	48, lagring 0 dygn	160
Blå (456)	72, lagring 0 dygn	160
Röd + Blå 8:1 (456+662)	48, lagring 0 dygn	160
Röd + Blå 8:1 (456+662)	72, lagring 0 dygn	160
Hög ljusintensitet Blåljus (662) 4, lagring 0 dygn		400
Hög ljusint. Röd + Blå 8:1 (456+662)	4, lagring 0 dygn	400
UV (280-315)	0,5 + lagring 5 dygn	-
UV (280-315)	1,5 + lagring 5 dygn	-
Blå (456)	48 + lagring 5 dygn	160
Blå (456)	72 + lagring 5 dygn	160
Röd + Blå 8:1 (456+662)	48 + lagring 5 dygn	160
Röd + Blå 8:1 (456+662)	72 + lagring 5 dygn	160
Hög ljusintensitet Blå (662) 4 + lagring 5 dygn		400
Hög ljusint. Röd + Blå 8:1 (456+662)	4 + lagring 5 dygn	400

Tabell 1. Totalt var det åtta olika ljusbehandlingar som testades under olika tider och olika ljusintensiteter. Hälften av de ljusexponerade bären lagrades under fem dagar i kylskåp (+5°C). Mätinstrument för att mäta UV-ljusets ljusintensitet saknades.

Förhållandet mellan röd- respektive blåljus är 8:1.

Totalt gav ett försök per blåbärssort 48 prov

(3 * 16) + kontroller.



Figur 1. Spektralfördelningskurvorna visar LED-ljusets spektrala strålningstoppar för blått- respektive rött ljus. Blått ljus har spektral topp vid 456 nm och rött ljus vid 662 nm.

BL00 = Blått ljus

RE00 = Rött ljus

Källa: Bergstrand 2012

Efter ljusbehandling, eventuell lagring och nedfrysning, extraherades proverna enligt den så kallade "blåtandsmetoden" med modifikation. Vid extraktionen av ett prov (6 blåbär á 10 gram) pipeterades 20 ml surgjord metanol ($\text{CH}_3\text{OH} + 2\% \text{HCl } 12 \text{ M}$) i 50 ml falkonrör tillsammans med de frysta blåbären. Provet mixades med Turrax-mixer (TP 18/10 220 V~170 W 20 000 UpM) i 60 sekunder och rören placerades med lock på is i en kylväska tills 24 prover var förberedda. Samtliga prover placerades på skakbord (430 S/N 18508-16 115V 50/60 Hz 1,0A 1 PH, Forma Scientific, Inc. USA) under två timmar i 2°C. Proverna placerades sedan i rumstemperatur för sedimentering under 15 minuter.

För att undvika för stora skalfraktioner pipeterades 1,5 ml vätska från övre delen av proven till mikrorör och centrifugerades i tre minuter på 13 000 varv i 4 °C (även 10 ml pipeterades till rör som sparades och frystes in inför HPLC analys). Efter centrifugering späddes proverna med surgjord metanol (1:101) genom att 2,5 µl provvätska och 2,5 ml surgjord metanol pipeterades till plaströr och blandades. Av utspädningen pipeterades 1 ml och fylldes i glaskyvet för mätning av absorbans (A) i spektrofotometer (Cary 50 BIO), 530 nm.

Utvalda prover som indikerat höjning av antocyanin från båda blåbärssorterna användes för analys med HPLC (1260 infinity, Agilent) för att bestämma koncentration samt antal antocyaniner. För varje prov pipeterades 1,5 ml provvätska till mikrorör och centrifugerades 8 minuter, 11 000 varv/minut, 4°C, för att få bort stora fragment och sedan pipeterades 700 µl till HPLC vialer.

Antocyaninkoncentrationen i blåbär mättes med spektrofotometri, och för att bestämma proportionerna av olika typer av antocyanin som förekom användes HPLC-analys.

Delfinidin-3-glukosid är den antocyanin anses förekomma i högst koncentration hos blåbär och beräkningsdata används därför utifrån denna. För att få en god uppfattning om koncentrationen av antocyanin görs först ett extrakt av blåbär tillsammans med surgjord metanol (2 % HCL + MeOH) och mäts med spektrofotometer vid våglängden 530 nm.

Totalt antocyaninnehåll beräknas i mg/kg friskvikt (Fw) enligt:

$$\left[\text{mg/kg Fw} = (A / \epsilon) * L * M_w * (V / W_t) * 100 \% * 10\,000 \right]$$

A =	Absorbansen	Wt =	Provvikten (g)
ε =	Molar absorptivitet	UF =	Utspädningsfaktor
L =	Kyvettens ljusgång i cm. Normalt 1.	<u>Delfinidin -3 o-glukosid</u>	
Mw =	Molekylvikten för Delfinidin-3-glukosid	Mw:	518,5 g/mol
V =	Slutvolym (l)	ε:	29 000 M ⁻¹ * cm ⁻¹
		A:	mäts vid 530 nm
		V:	0,04 l
		Wt:	10 g

Blåbärssorten 'Duke' har beräknats med 10 gram provvikt (Wt) som genomsnitt medan 'Legacy' har anpassats efter verklig provvikt (provvikt efter ljusexponering eller lagring). Anledningen till att metoden skiljer sig mellan sorterna var att torrvikten (Ts), som skulle bestämmas efter ljusexponering genom frystorkning av bären, visade sig inte fungera. Vid frystorkning av hela blåbär avges inte all fukt och eventuella viktninskningar kunde därmed inte bestämmas med frystorkning som metod.

Resultaten (A) från spektrofotometerin presenteras i staplar (medelvärde av trippelprov) med standardavvikelse och P-värde för att se avvikelser och signifikanta skillnader. All data beräknas i Excel och Mini-tab.

Standardavvikelse redovisar hur mycket trippelproven avviker från medelvärdet. Vid spridda resultat visas en hög standardavvikelse medan jämna resultat visar en standardavvikelse nära medelvärdet. P-värdet ger indikation på om nollhypotesen kan förkastas eller är sann. Vanligtvis förkastas nollhypotesen om p-värdet är mindre än 0,05 (mindre är 5 %).

3. Resultat

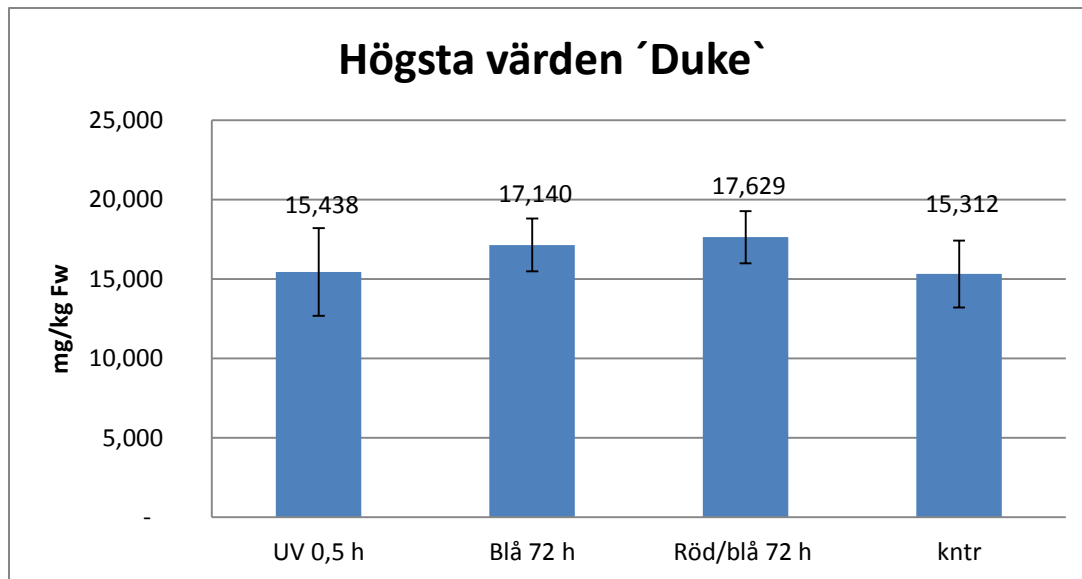
Högsta koncentrationerna av antocyanin (mg/kg friskvikt) från respektive ljusbehandling och sort presenteras i varsitt diagram och jämförs med kontrollen. För att bestämma koncentrationerna av antocyanin har spektrofotometri använts. För att räkna ut koncentrationerna har en formel använts:

$$\left[\frac{A}{\epsilon} \cdot L \cdot M_w \cdot \left(\frac{V}{W_t} \right) \cdot 100 \% \cdot 10\,000 \right].$$

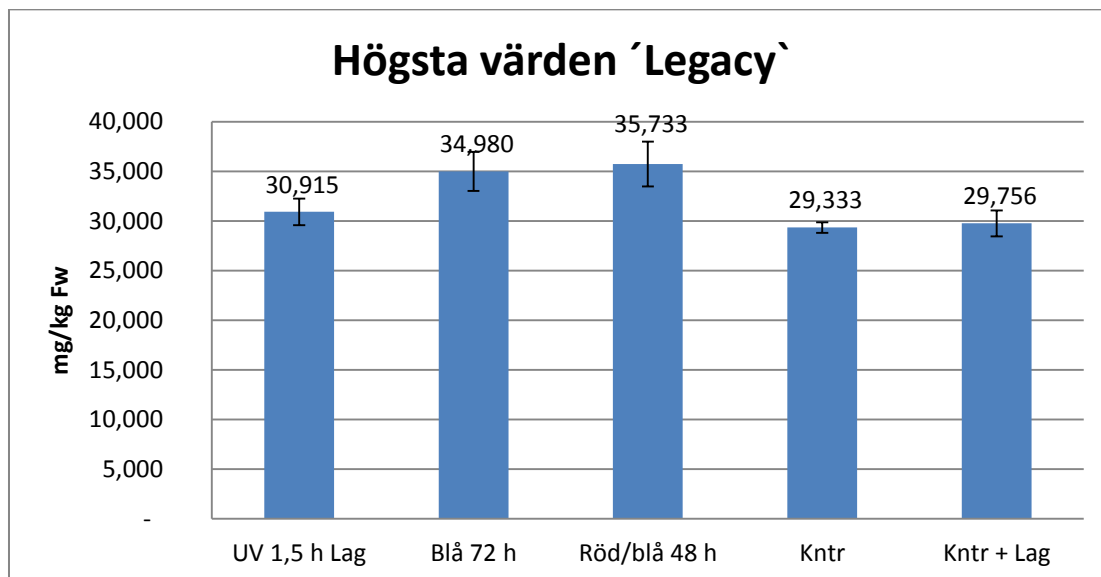
Den UV behandling hos 'Duke' som var ensam om att ha högre halt antocyanin än kontrollen (0,5 timmar utan lagring) visade 0,8 procent högre antocyaninhalt (figur 4).

Blå – ljusbehandling under 72 timmar var den behandling som visade näst högst halt av antocyanin i jämförelse med alla behandlingar (figur 2). I jämförelse med kontrollen hade blåljusbehandling i 72 timmar utan lagring 11,9 procent högre halt antocyanin. Ingen annan exponeringstid visade högre halt än kontrollen hos blåljusbehandlingen av 'Duke' (figur 6). Röd/blå-ljusbehandling i 72 timmar utan lagring var den behandling och ljusexponeringstid som visade högst halt av antocyanin (p-värde 0,287) i jämförelse med alla behandlingar hos 'Duke' (figur 2). I jämförelse med kontrollen är det 15,1 procent högre antocyaninkoncentration (figur 8). Även 48 timmars ljusexponering utan lagring visade högre halt än kontrollen (3,7 procent).

Två UV-ljusbehandlingar hos 'Legacy' visade högre halt än kontrollerna (0,5 timme följt av lagring samt 1,5 timme följt av lagring, figur 5). Den UV-behandling som visade högst halt (1,5 timme följt av lagring) hade 5,4 procent högre halt än kontrollen som frystes direkt vid ankomst. Blå-ljusbehandling under 72 timmar samt 72 timmar följt av lagring var de exponeringstider inom behandlingen som visade högre halt än kontrollen (figur 7). Dock var 72 timmars exponering följt av lagring lägre än provet som inte hade lagrats. 72 timmar utan lagring var den behandling som hade näst högst halt i jämförelse med alla ljusbehandlingar och visade 19,2 procent högre antocyaninhalt än kontrollen som frystes direkt vid ankomst till laboratoriet (figur 3). Röd/blå-ljusbehandling i 48 timmar utan lagring var den behandling hos 'Legacy' som gav högst halt av alla ljusbehandlingar (p-värde på 0,018, figur 3). Det innebar 21,8 procent högre antocyaninkoncentration i jämförelse med kontrollen som frystes direkt vid ankomst till laboratoriet. Även hög ljusintensitet utan lagring visade högre halt än kontrollen (7,5 procent) tillsammans med 72 timmar (13,7 procent), 48 timmar följt av lagring (3,2 procent) samt 72 timmar följt av lagring (8,9 procent), se figur 9. Störst viktförlust visade blå-ljusbehandlingen, både med och utan lagring (figur 10 och figur 11).



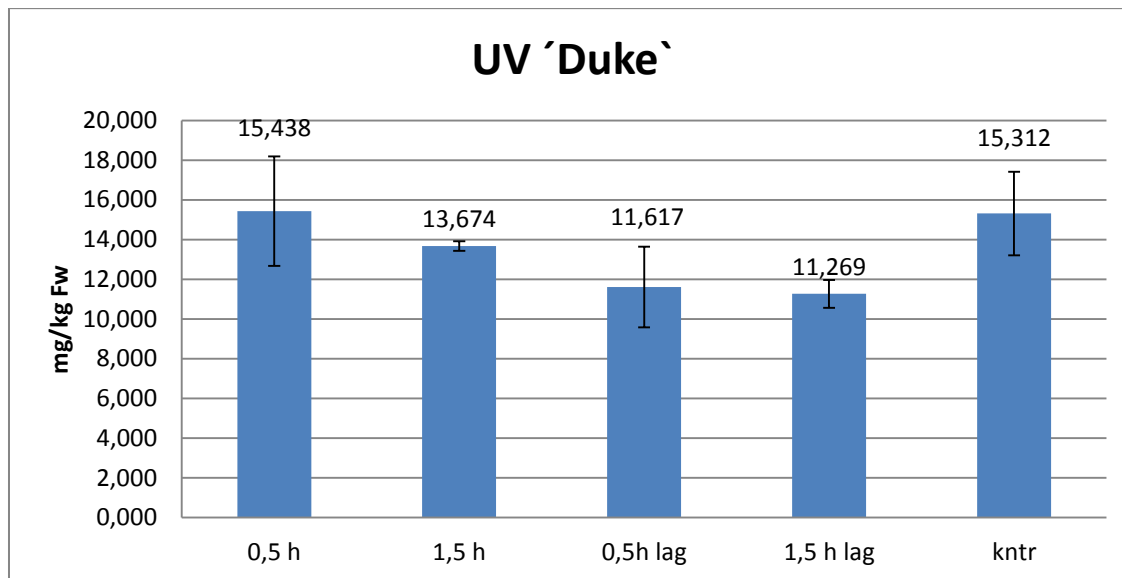
Figur 2. Behandlingar som visat högst halt av antocyanin har samlats i ett diagram per blåbärssort och presenteras i mg antocyanin per kg friskviktblåbär. Röd/blå ljusbehandling gav mest ökning hos både 'Duke' och 'Legacy'. P-värde för 'Duke' visar 0,287. P-värde för 'Legacy' visar 0,021 vilket är en signifikant skillnad och en bekräftelse på att hypotesen är sann. Lag =behandling som ljusexponerats och sedan lagrats. Kntr = kontrollprov



Figur 3. Röd/blå ljusbehandling under 48 timmar gav högst antocyaninkoncentration hos 'Legacy'. P-värde för 'Legacy' visar 0,021 vilket är en signifikant skillnad i jämförelse med kontrollen. Lag =behandling som ljusexponerats och sedan lagrats. Kntr = kontrollprov

Följande figurer visar olika antocynainkoncentration i mg/kg friskvikt hos 'Duke' respektive 'Legacy', efter ljusexponering och lagring. Figur 10 och 11 visar blåbärens vikt förlust efter ljusexponering och lagring.

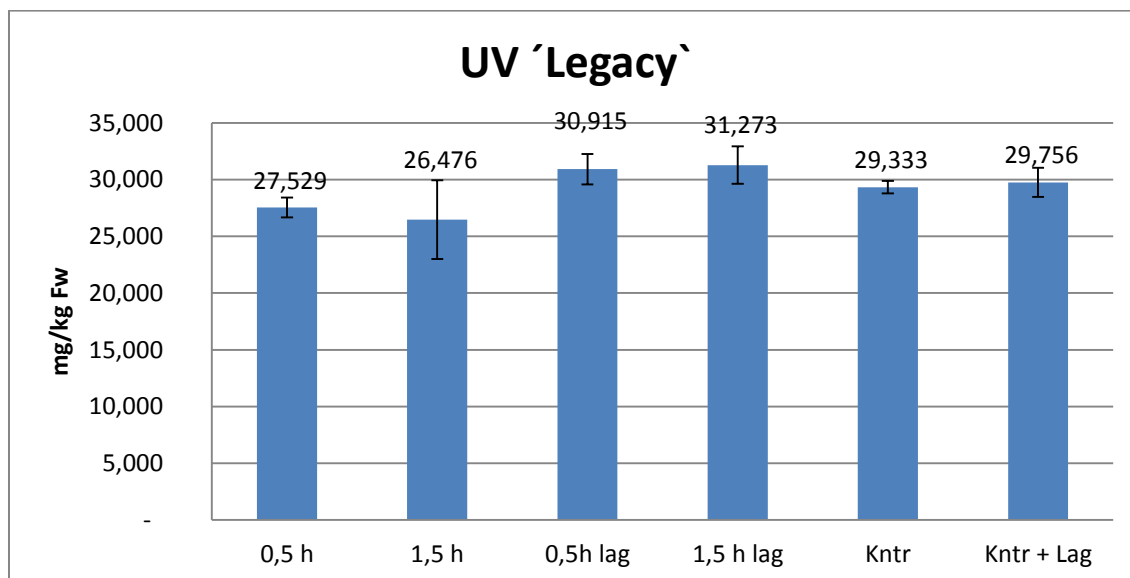
3.1 UV-ljusbehandlingar



Figur 4. UV-ljusbehandling av 'Duke' visar att 0,5 timmar av kortvågigt UV-ljus ger högst halt av antocyanin. Dock är det endast 0,8 procent högre antocyaninkoncentration än kontrollen.

Lag = Behandling som ljusexponerats och sedan lagrats

kntr = Kontrollprov.

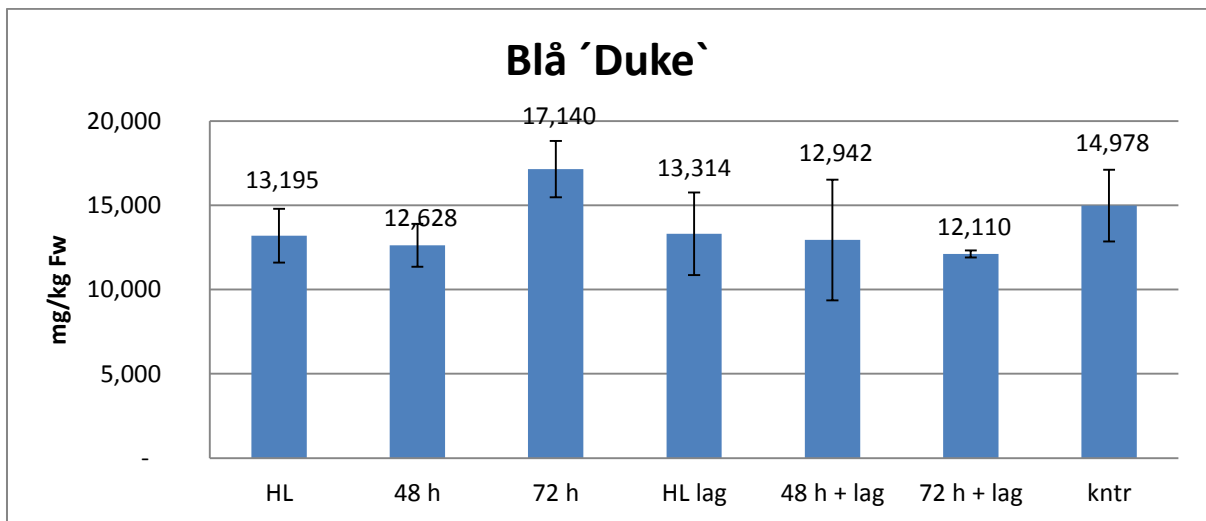


Figur 5. UV-ljusbehandling av 'Legacy' under 1,5 timme + lagring i fem dygn gav högst halt av antocyanin vilket är 5,1 procent högre halt i jämförelse med kontrollprovet som frystes direkt vid ankomst till laboratoriet.

Lag = Behandling som ljusexponerats och sedan lagrats

kntr = Kontrollprov.

3.2 Blå-ljusbehandlingar

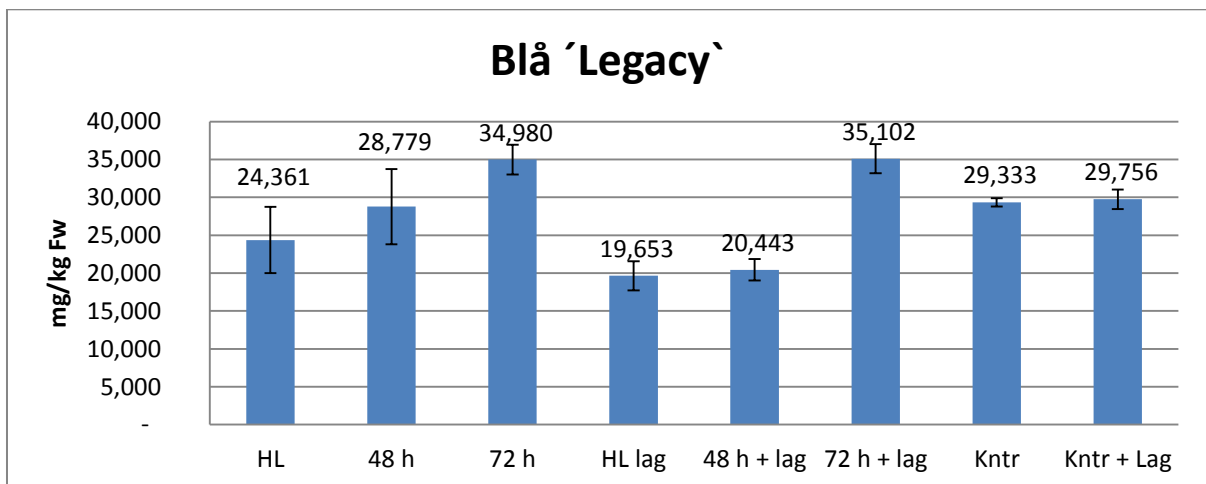


Figur 6. Blåljusbehandling av 'Duke' visar att 72 timmars ljusexponering gav högst halt av antocyanin vilket är 14,4 procent högre antocyaninkoncentration i jämförelse med kontrollen.

Lag = Behandling som ljusexponerats och sedan lagrats

kntr = Kontrollprov

HL = Hög ljusintensitetsbehandling



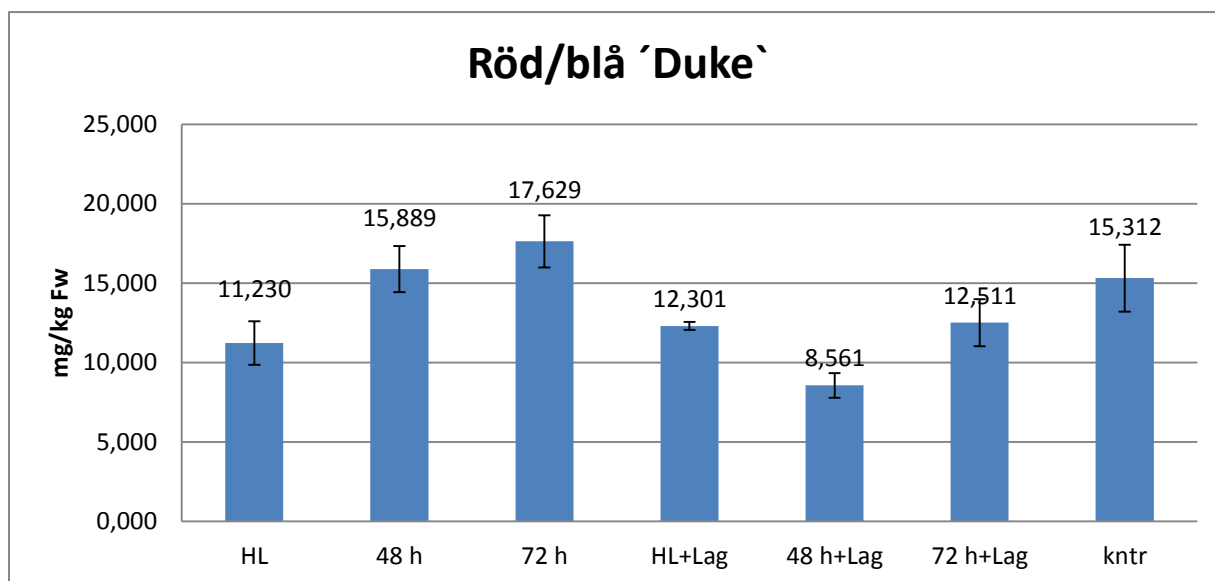
Figur 7. Blå ljusexponering under 72 h timmars var den behandling som gav högst halt antocyaninkoncentration vilket är 19,2 procent högre halt i jämförelse med kontrollprovet som frystes direkt vid ankomst till laboratoriet.

Lag = Behandling som ljusexponerats och sedan lagrats

kntr = Kontrollprov

HL = Hög ljusintensitetsbehandling

3.3 Röd/blå-ljusbehandlingar

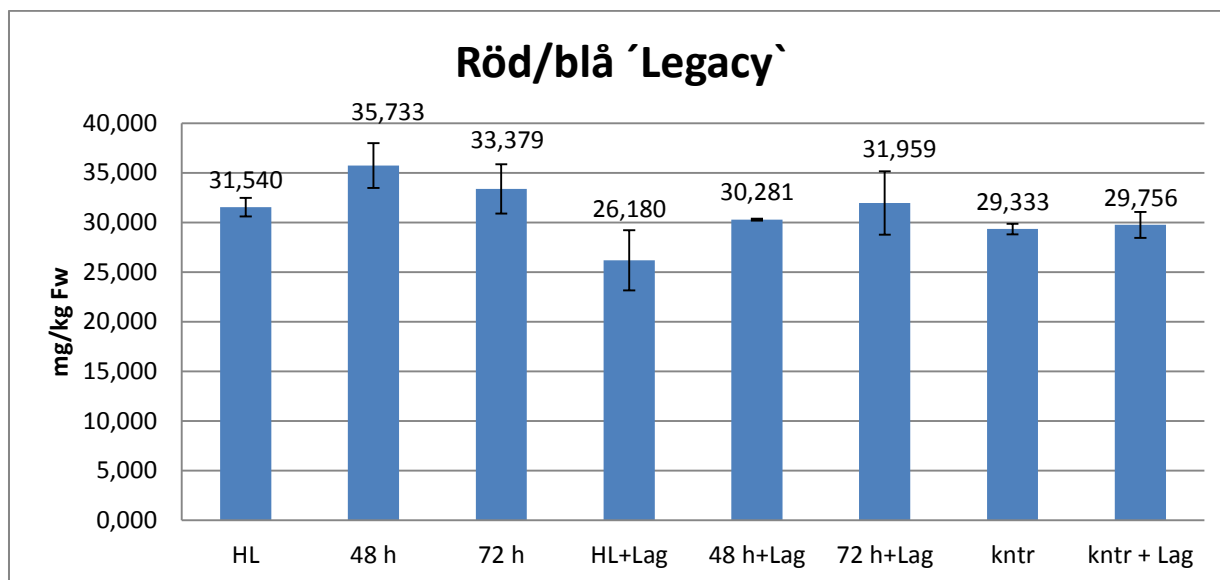


Figur 8. Röd/blå-ljusbehandling av 'Duke' visar att 72 timmars ljusexponering gav högst halt av antocyanin, vilket är 15,1 procent högre antocyaninkoncentration i jämförelse med kontrollen.

Lag = Behandling som ljusexponerats och sedan lagrats

kntr = Kontrollprov

HL = Hög ljusintensitetsbehandling



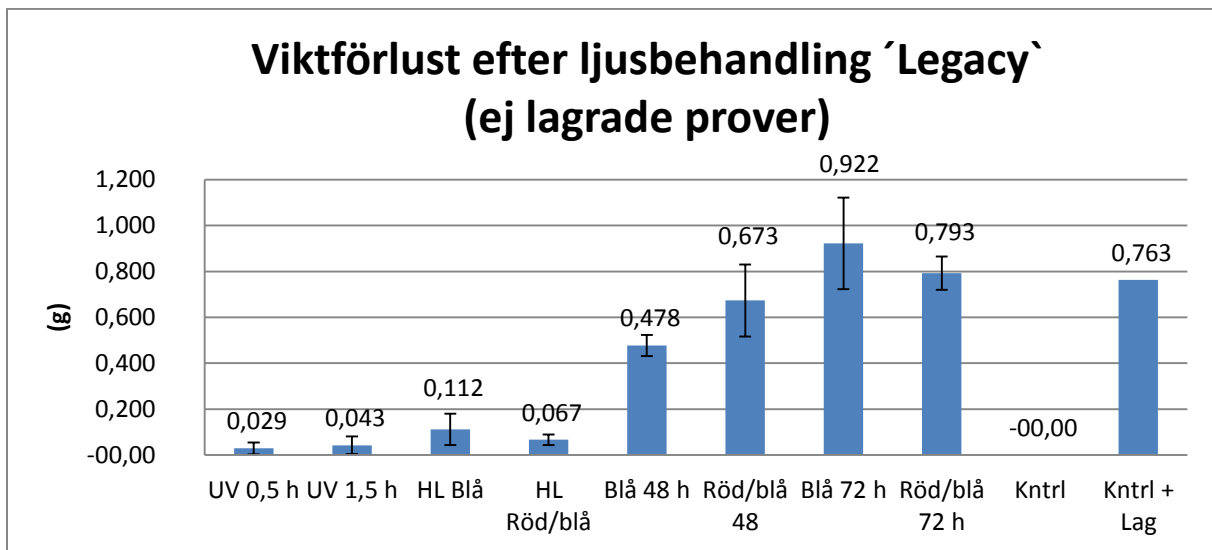
Figur 9. Röd/blå ljusexponering under 48 timmar var den behandling som gav högst halt antocyaninkoncentration vilket är 21,8 procent högre halt i jämförelse med kontrollprovet som frystes direkt vid ankomst till laboratoriet.

Lag = Behandling som ljusexponerats och sedan lagrats

kntr = Kontrollprov

HL = Hög ljusintensitetsbehandling

3.4 Viktförluster

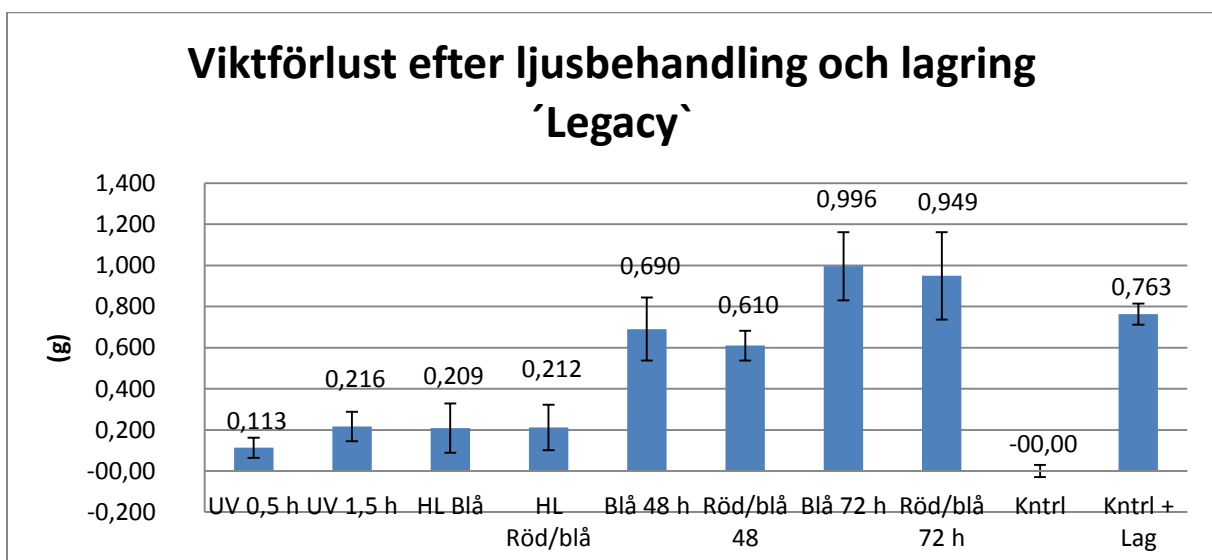


Figur 10. Viktförlust i gram hos 'Legacy' efter belysning (ingen lagring). Proven vägdes innan ljusexponering och digramet visar hur mycket vätska i gram som förlorats. Blå-ljusbehandling under 72 timmar gav högst förlust av vätska hos blåbären i jämförelse med röd/blå ljusbehandling samt blå- och röd/blå ljusbehandling under 48 timmar. Behandlingar med kort ljusexponering visade sammantaget lägst viktförluster.

Lag = Behandling som ljusexponerats och sedan lagrats

kntr = Kontrollprov

HL = Hög ljusintensitetsbehandling



Figur 11. Diagramen visar viktförlust i gram hos 'Legacy' efter belysning och lagring. Proven vägdes innan behandling och lagring. Diagramet visar hur mycket vätska i gram som förlorats. Blå-ljusbehandling under 72 timmar gav högst förlust av vätska hos blåbären i jämförelse med röd/blå ljusbehandling under 72 timmar samt blå- och röd/blå ljusbehandling under 48 timmar.

Lag = Behandling som ljusexponerats och sedan lagrats

kntr = Kontrollprov

HL = Hög ljusintensitetsbehandling.

3. Slutsats och diskussion

Resultatet kan tolkas på flera olika sätt som till att jämföra ljusbehandlingar, exponeringstid ljusintensiteter med varandra inom samma sort samt att jämföra om lagringstid ger effekt på dessa. Exponeringstider inom en ljusbehandling kan även jämföras mellan de två olika blåbärssorterna. Det sker en liknande effekt på anocyaninhalten av ljusexponering oavsett sort, och en viss trend kan urskiljas. Resultatet visar sammanfattningsvis att det sker en viss ökning av antocyanin vid 48- och 72 timmars ljusexponering vid röd/blå- ljusbehandling. Röd/blå ljusbehandling gav högst ackumulering av antocyanin hos både 'Duke' och 'Legacy'. Blå-ljusbehandling visade näst högst antocyaninackumulering hos båda sorterna. Slutsatsen är att både blått- och rött ljus bidrar till ökad syntes av antocyanin. Det rimligt att påstå att lägre ljusintensitet under längre ljusexponering bidrar till högre halt av antocyanin. Försöket visar att hög ljusintensitet inte ger högre halt samt att lagring inte bidrar till högre ackumulering av antocyanin, vilket var okänt innan försökets startades.

Ljuskvaliteten kan vara nyckeln till hur koncentrationen av antocyanin i blåbär efter skörd kan höjas och därmed kunna ge en högre mängd antocyanin att extrahera. Det är möjligt att antocyaninbiosyntesen delvis är styrd av genuttryck som triggas av rött ljus respektive blått ljus. Här kan kryptokrom och fytochrom (fotosensoriska receptorer) vara ansvariga för att styra genuttryck av antocyaninsyntes. Hänsyn bör även tas till växtmaterialet, då variation i respons ger olika effekter beroende på vilken sorts växt som studeras. Studier kring ljusexponering av vildväxande blåbär och eventuell ökning av antocyaninkoncentration med hjälp av monokromatiskt ljus, skulle kunna ge intressanta resultat och i framtiden ge det svenska skogsbären ett större mervärde vid export eller direkt extraktion. Att bär från blåljusbehandlingarna av 'Legacy' förlorat mest vatten kan bero på att blåljus styr öppning och stängning av stomata.

Färska och vildväxande blåbär hade varit att föredra, dock kan försöket ge indikation på om ljusfrekvenser och ljusintensiteter kan ge upphov till ökning av antocyaninackumulering. Tiden mellan skörd och ljusexponering kan vara avgörande för antocyaninhalten i blåbären. Färska bär har troligtvis större kapacitet att syntetisera antocyanin än äldre bär eftersom senescensen (åldersprocessen) är mindre långt gången. De chilenska bär som användes i försöket var två veckor gamla. Att bären har odlats i Chile kan också ha betydelse för antocyaninhalten. Det chilenska klimatet kan ge en kortare kultur och bären mognar därmed snabbare än bär som odlats i kyligare klimat vilket kan ha inverkan på olika synteser av sekundära metaboliter som antocyanin. Dessutom kan sortval ha betydelse då olika sorters blåbär av samma art, producerar olika höga halter av antocyanin. Att antocyaninhalten skiljer sig mellan sorter kan vara genetiskt betingat och därmed ha en viss betydelse vid effekten av ljusexponeringen. Vissa sorter kanske kan producera mer antocyanin än andra sorter.

Att använda LED-ljus kan vara en ekonomisk och mest effektivt med tanke på att LED-ljus anses vara en energisnål teknik samt att dioderna har lång hållbarhet. Om ändå blåbären lagras innan extraktion kan det vara en idé att ge ljusbehandling under tiden. Dock behöver investering samt installation av LED-ljus ses över om det är lönsamt i förhållande till den ökade halt av antocyanin som tillkommer av ljusbehandling.

Resultatet från HPLC-analysen kunde inte presenteras då antocyaninmolekylerna var dåligt separerade i kolonnen. Proverna kördes med en metod anpassad för grönt té vilket är en

standardmetod för fenoler. Det visade sig vara fel metod för antocyanin. Värden från HPLC analysen hade kunnat visa antocyaninkoncentration samt antal olika sorters antocyaniner. Torrsubstanshalt (Ts) kunde inte beräknas, då det var svårt att frystorka hela bär. Blåbär har ett mycket starkt och segt skal, vilket medför att materialets vätska inte helt avdunstar vid frystorkning. Mixning bör ske innan provet frystorkas. Värdet av frystorkning visar de sanna provvikterna efter ljusexponeringen. Provernas vikt noterades först i försöket med 'Legacy' eftersom mätningen av Ts inte kunde genomföras.

Vid fortsatta studier skulle det vara intressant att använda *V. myrtillus* från olika delar av Sverige eller nordliga breddgrader, skördade under olika tidpunkter. Röd ljusexponering skulle kunna jämföras med Röd/blå-ljusexponering för att se om det är stora skillnader i antocyaninkoncentrationen, och därmed få en extra pusselbit till att förstå hur ljuskvalitet kan styra antocyaninbiosyntesen hos blåbär. Även lagringstider bör inte uteslutas utan olika temperaturer och lagringstid kan vara intressant att laborera med.

Referenser

- Arakawa, O., Hori, Y., Ogata, R. (1985) Relative effectiveness and interaction of ultraviolet-B, red and blue light in anthocyanin synthesis of apple fruit. *PHYSIOL. PLANT.* 64: 323-327.
- Azuma, A., Ito, A., Moriguchi, T., Yakushiji, H., Kobayashi, S. (2012) Light emitting Diode Irradiation at Night Accelerate Anthocyanin Accumulation in Grape Skin. *Acta Hort.* 956, ISHS.
- Cantos, E., Garcia-Viguera, C., de Pascual-Teresa, S., Tomás-Barberán, F.A. (2000) Effect of Postharvest Ultraviolet Irradiation on Resveratrol and Other Phenolics of Cv. Napolen Table Grapes. *J. Agric. Food Chem.* 48, 4606-4612.
- Erlund, I., Koli, R., Alfthan, G., Marniemi, J., Puukka, P., Mustonen, P., Mattila, P., Jula, A. (2009) Favorable effects of berry consumption on platelet function, blood pressure, and HDL cholesterol. *Am J Clin Nutr* February 2008 vol. 87 no. 2 323-331.
- Jaakola, L., Hohtola, A. (2010) Effect of latitude on flavonoid biosynthesis in plants. *Plant, Cell & Environment.* Volume 33, Issue 8, pages 1239-1247, august 2010
- Kataoka, I., Beppu, K., Yanagi, T., Okamoto, K. (2004) Light Components Contributing to Accumulation of Anthocyanins in 'Gros Colman' Grape Berries. *Acta Hort.* 60, ISHS
- Kalt, W., Forney, C. F., Martin, A., Prior, R.L. (1999) Antioxidant Capacity, Vitamin C, Phenolics, and Anthocyanins after Fresh Storage of small Fruits. *J. Agric. Food Chem.* 47, 4638-4644. Canada
- Kalt, W. & McDonald, J. E. (1996) Chemical Composition of Lowbush Blueberry Cultivars. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 121 (1):142-146. Agriculture and Agri-Food Canada Research Centre, Kentville, Nova Scotia B4H 1J5, Canada
- Perkins-Veazie, P., Collins J.K., Howard, L. (2008) Blueberry fruit responds to postharvest application of ultraviolet radiation. *ScienceDirect Postharvest Biology and technology* 47 (2008) 208-2085.
- Rendeiro, C., Guerreiro, J. D. T. Williams, C. M., Spencer, J. P. E. (2012) Postgraduate Symposium Flavonoids as modulators of memory and learning: molecular interactions resulting in behavioural effects. [Elektronisk] I: Spencer J. P. E. (red.), *70th Anniversary Conference on 'From plough through practice to policy'*. Proceeding of the Nutrition Society (2012), 71, 246-262. University of reading, Reading, UK. 4-6 July 2012. Tillgänglig: http://journals.cambridge.org/download.php?file=%2FPNS%2FPNS71_02%2FS0029665112000146a.pdf&code=bfe0cfd826c1ba27d298f403f4d38dc7. [2013-02-27]
- Ribera, A. E., Reyes-Diaz, M., Alberdi, M., Zuñiga, G.E., Mora M.L. (2010) ANTIOXIDANT COMPOUNDS IN SKIN AND PULP OF FRUITS CHANGE AMONG GENOTYPES AND MATURITY STAGES IN Highbush BLUEBERRY (*Vaccinium corymbosum* L.) GROWN IN SOUTHERN CHILE. *J. Soil. Sci. Plant Nutr.* 10 (4): 509 - 536 (2010)
- Schlüssler, H. K. & Bergstrand, K.-J. (2009) Lysdioder-framtidens växthusbelysning? *Fakta från Tillväxt trädgård* Info nr 7 - 2009

Takikawa, M., Inoue, I., Horio, F., Tsuda, T. (2010) Dietary Anthocyanin-Rich Bilberry Extract Ameliorates Hyperglycemia and Insulin Sensitivity via Activation of AMP-Activated Protein Kinase in Diabetic Mice¹⁻³. *J. Nutr.* March 2010 vol. 140 no. 3 527-533

Vollmanová, A., Tóth, T., Urminská, D., Poláková, Z., Timoracká, M., MArgitanoá, E. (2009) *Czech J. Food Sci.* Vol. 27, 2009, Special issue

Zouh, Y. & Singh, B. R. (2002) Red light stimulates flowering and anthocyanin biosynthesis in American cranberry. *Plant Growth Regulation* 38: 165-171. Kluwer Academic Publishers. Netherlands

Zafra-Stone, S., Yasmin, T., Bagchi, M., Chatterjee, A., Vinson J. A., Bagchi, D. (2007) Berry anthocyanin as novel antioxidants in human health and disease prevention. [Elektronisk] Bagchi, D. (red.), Research Article, *Mol. Nutr. Food Res.* 2007, 51, 675-683 Creighton University Medical center, Omaha, USA. Tillgänglig: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17533652>. [2013-02-27]

Åkerström A. (2010) *Factors Affecting the Anthocyanidin Concentration in Fruits of Vaccinium myrtillus L.* Diss. Umeå: Swedish University of Agricultural Sciences, Umeå 2010, Arkitektkopia

Böcker

Goodwin, T W., Mercer, E. I. (1972) Introduction to Plant biochemistry 1. ed. Ames: Great Britain, A. Wheaton & Co., Exeter.
ISBN 0080162231

Raven, P.H., Evert, R. F., Eichhorn, S. E. (1999) *Biology of Plants*. 6. ed. Ames: New York, USA, W. H. Freeman and Company/worth Publisher.

Taiz, L., Zeiger, E., Gershenzon, J., Engelberth, J. E. (2012) Secondary Metabolites and Plant defense. I: Taiz, L., Zeiger, E. (red.) *Plant physiology*. Sunderland, USA. Sinauer Associates, Inc.

Internet

Naturhistoriska Riksmuseet (2004-11-17) *Blåbär Vaccinium myrtillus L.*
<http://linnaeus.nrm.se/flora/di/erica/vacci/vaccmyr.html>. [2013-02-20]

Nationalencyklopedin, Jönsson, J. Å. (2013) *Kromatografi*.
<http://www.ne.se/vätskekromatografi>. [2013-02-21].

Nationalencyklopedin, Jönsson, J. Å. (2013) *Vätskekromatografi*.
<http://www.ne.se/vätskekromatografi>. [2013-02-21].

Nationalencyklopedin (2013) *Ljusabsorptionsspektrometri*.
<http://www.ne.se/ljusabsorptionsspektrometri>. [2013-02-26.]

Wikipedia (2013) *Fotometer*. <http://sv.wikipedia.org/wiki/Fotometer>. [2013-02-25]

Elektroniska Referenser

Dey, P. M., Harborne, J. B. (1997) Plant Biochemistry. [Elektronisk] Academic Press, San Diego,

California, USA & Academic Press Limited, London, UK.
ISBN 0122146743 (HB), 0127992146 (PB)

Haite, J-H. & Gould, K.S. (2009) *Anthocyanins Biosynthesis, Functions and Applications*. [Elektronisk]
New York. Springer Science + Business Media. Tillgänglig: [2013-02-13].
ISBN 0387773355

Iseborg, R. (1996) *Växternas Latinska namn*. [Elektronisk] Botaniska Sällskapet i Stockholm. Tillgänglig:
[2013-02-28] ISBN 9197191396

Bilder

Bild 1 Wikipedia, Matthias M (2009) *Fotometer*.
<http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Fotometer.svg>.
Tillgänglig: [2013-02-26].
Senast uppdaterad: 2010-07-14

Bild 2 Wikipedia, YassineMrabet (2009) *HPLC apparatus*.
http://commons.wikimedia.org/wiki/File:HPLC_apparatus.svg.
Tillgänglig: [2013-02-26].
Senast uppdaterad: 2011-04-15.

Icke publicerat material

Telefonintervju
Uddstål, Roger. Regionchef och projektledare, SIK-Institutet för livsmedel och bioteknik AB, [2013-02-26]
roger.uddstal@sik.se

Figur1. E-postmeddelande. (2012) *Spectral irradiance and wavelength*.
Bergstrand, Karl-Johan Agr. Dr Trädgårdsvetenskap och biträdande forskare, biosystem och teknologi, SLU, Alnarp

